GE Healthcare

パーソナルスペクトルモニター
GeneQuant *pro*
取扱説明書

71-2236-32

目次

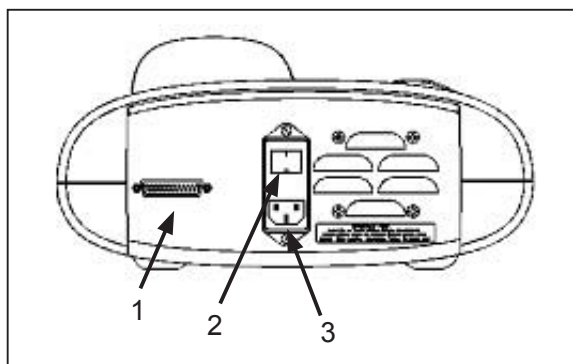
開梱、設置、起動

- 装置に輸送時に生じたと思われる損傷がないか確認してください。何らかの損傷が発見された場合は、すぐにお知らせください。
- 装置は下記の安全な使用条件を満たす場所に設置してください。
  ・室内
  ・温度：10 ～ 40℃
  ・湿度：80% 以下（31℃以下の場合）、80 ～ 50% まで直線的に低下（31 ～ 40℃の場合）
- 装置は 4 kg の重量が支えられる丈夫で平らな実験台で、周囲を空気が自由に循環する場所に設置してください。
- 壁から最低 5 cm 以上離して設置し、冷却ファンの吸 / 排気口を塞がないようにしてください。
- 装置の電源は必ず付属の電源ケーブルで取り、必ずアースしてください。装置は 90 ～ 265 V の範囲で使用可能です。
- 後部パネルの電源スイッチを投入すると、数秒間の初期化後、約 1 分間のキャリブレーションが開始されます。シヨウカノウデス（Instrument Ready）のタイトルで、装置のシリアル番号、ソフトウェアのバージョン、日付、サンプル番号が表示された画面に切り替わると、測定を開始することができます。
- 本装置を定められた以外の方法で使用したり、安全な操作上適切でない設置環境で使用した場合には、装置の安全機構が損なわれ、装置の保証をしかねる場合があります。

安全上の注意

本装置にはさまざまな警告表示や記号があり、それらは危険性のある箇所や特別な注意事項を示しています。装置の使用を開始する前に、それらの記号の意味をよく理解してください。

警告の記号（添付文書をご参照ください）。
背景は黄色、記号と枠は黒色です。

後部パネル

1. 多目的インターフェースソケット
2. 電源スイッチ（1 = on、0 = off）
3. 電源ソケット

操作

はじめに

GeneQuant *pro* パーソナルスペクトロフォトメーターは、バイオテクノロジーや創薬を含むライフサイエンスの分野で研究を行う分子生物学者のためにデザインされた、ユニークで非常に使いやすい分光光度計です。光源には長寿命のパルス重水素ランプを使用しており、ボタン操作 1 つで 230、260、280、320、546、562、595 および 600 nm の吸光度を測定し、関連したパラメーターを自動的に計算して表示します。本装置は、分子生物学者が行っている多くのルーチンワークに理想的な作りになっています。

- PCR 産物や、ハイブリダイゼーション用、ミニプレップなどの核酸（DNA、RNA、オリゴヌクレオチド）の濃度（μg/ml、ng/μl、μg/μl、pmol/μl、pmol phosphate）や純度を求めることができます。260 nm の波長は定量に利用される他、230 および 280 nm の波長とともに（吸光度比 260/230、260/280 として）純度チェックに利用されます。320 nm の波長はバックグラウンドの補正に利用されます。サンプル濃度、希釈率、利用可能なサンプル容量によって、測定に適した様々なセルが利用できます。また、核酸の簡易スキャン機能により、サンプルのスペクトルを確認することができます。
- オリゴヌクレオチドの塩基配列、濃度、バッファー濃度を入力することによって、PCR 用のプライマーのアニーリング温度を計算することができます。この計算にはヌクレオチド鎖の各塩基の隣接する塩基間での nearest neighbour の熱力学データを利用しています（Breslauer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83, 3746（1986））。
- 595 nm、546 nm および 562 nm の波長を利用して、それぞれブラッドフォード法、ビューレット法および BCA 法によるタンパク質定量を行うことができます。サンプル濃度は保存されたスタンダードカーブに基づいて求められ、直線回帰計算の結果（数値）も得られます。
- 最適な培養時間を決定するために、菌培養液の 600 nm における濁度を測定することができます。

実験結果を公式記録としてデジタルデータで保存する場合には、専用のシリアルインターフェースアダプターを使用して、全てのデータを PC へ Ecxel 形式で直接ダウンロードすることができます。また、実験結果は標準のセントロニクスパラレルプリンターへも出力することができます。

キャリブレーションチェックフィルターセットを使用することによって、GLP を実施するための装置の定期テスト（波長精度、測光精度および迷光）を行うことができます。テスト結果と装置の状態は、記録の保存のため、PC へダウンロードするかプリントアウトしなければ確認できないようになっています。

本装置は使いやすく、ユーザーフレンドリーで、ランプ寿命が長くランニングコストの低い測定システムになっています。

装置の特徴

ディスプレイは 128 × 64pixel のバックライト付液晶です。キーパッドは set-up を含む全 28 キーで構成され、数字キー、ユーティリティーキーおよび測定キーの 3 種類に大別されます。電源投入後、初期化とキャリブレーションが終了すると、装置は使用できる状態（シヨウカノウデス（Instrument Ready））になります。

下記の点にご注意ください。

・ 特に核酸定量で微量セルを使用する場合や、ブラッドフォード法などのタンパク質定量を行う際には、測定前に装置のセットアップが必要な場合があります。

・ 異なる測定手法で測定する際には必ずリファレンスの測定を行ってください。リファレンスおよびサンプルを入れたセルは、光路面が装置の前後方向になるようにセットしてください。

・ サンプルをセルホルダーに挿入後、適切な測定キーもしくは **enter** キーを押すと測定することができます（測定時間は測定する波長数によって異なり、abs モードで全波長を測定した場合、約 12 秒かかります）。

ユーティリティーキー

set-up 装置の様々な機能設定を行います（14 ページ『セットアップ』参照）。適切な測定キーを押した後 **set-up** キーを押すと、その測定モードでの設定画面に切り替わり、最初の項目がハイライト表示されます。

cal check 専用のフィルターを使用して、装置の波長精度、測光精度および迷光のテストを行います（31 ページ参照）。

select 各設定項目中の選択肢を表示します。また、Base Sequence モードおよび核酸モード（DNA、RNA および oligo）でスキャンオプションが選択されている場合、測定結果を表示します。

print 多目的出力ポートよりデータをプリントアウトもしくは PC へ出力します。

base seq プライマーあるいはオリゴヌクレオチドの配列を入力することにより、理論吸光度、分子量および吸光係数を計算することができますます（18 ページ参照）。

Tm 入力した塩基配列および 260 nm の吸光度に基づいて、Tm 値の計算結果を表示します（19 ページ参照）。

stop **escape** キーとして機能し、初期画面に戻ります。

set ref 適切な波長でリファレンスの測定を行います。

enter set-up での選択肢の確定および測定キーとして機能します。

測定キー

abs	測定波長	230、260、280、320、595、600 nm
	計算	なし
	測定	各サンプル毎
DNA	測定波長	230、260、280、320 nm
	計算	DNA 濃度
		260/280 吸光度比
		260/230 吸光度比
	測定	各サンプル毎
RNA	測定波長	230、260、280、320 nm
	計算	RNA 濃度
		260/280 吸光度比
		260/230 吸光度比
	測定	各サンプル毎
oligo	測定波長	230、260、280、320 nm
	計算	オリゴヌクレオチド / プライマー濃度
	260/280	吸光度比
	260/230	吸光度比
	測定	各サンプル毎
protein 595 assay	測定波長	Set-up で 595，546，562 nm から選択
	計算	タンパク質濃度
	測定	各サンプル毎
	set-up であらかじめ指定した、既知濃度のスタンダードを用いて作成した検量線にもとづいて濃度を計算します。	
protein 280 meas	測定波長	260、280、320 nm
	計算	タンパク質濃度
	測定	各サンプル毎
cell culture	測定波長	600 nm
	計算	OD 補正
	測定	各サンプル毎

テクニカル情報

DNA、RNA、オリゴヌクレオチドの特性

核酸の定量

- 核酸（DNA や RNA）の溶液は、光路長 10 mm のセルで測定したときの 260 nm における吸光度が 1.0 の場合、それぞれ 50、40 μg/ml の濃度であることがよく知られており、この値（ファクター）をもとに定量することができます。オリゴヌクレオチドの場合は、塩基配列によって異なりますが、33 μg/ml というおおよその値を用いることができます。塩基配列が明らかな場合は、より正確なファクターを計算することができます（Base Sequence および下記参照）。

  核酸濃度 = A_{260} ×ファクター

- 本装置では、初期設定として DNA、RNA およびオリゴヌクレオチドに対して、それぞれ 50、40 および 33 のファクターが設定されています。また、希釈率や光路長が 10 mm 以外のセルを使用した場合は、set-up で入力して補正することができます。

- ウルトラマイクロボリュームセルやキャピラリーセルなどの微量セルを使用する場合は、セルに付属の説明書および本書セルの項目（27 ページ参照）にしたがって、サンプルを正しく充填し、セルの光路長が正しく入力されているかどうかを確認してください。

- 初期設定されている濃度の単位は μg/ml ですが、set-up で ng/μl、μg/μl、pmol/μl および pmol phosphate に変更することもできます（pmol/μl の単位はシークエンシングや PCR のための定量に便利です）。計算には下記の変換式を使用しています。

  1 μg/ml = 1 ng/μl = 0.001 μg/μl

  $$\text{pmol/μl} = \frac{(\text{μg/ml} \times 1{,}000)}{\text{オリゴヌクレオチドの分子量}}$$

  $$\text{pmol phosphate} = \frac{\text{ヌクレオチド濃度 (μg/ml)}}{315}$$

- オリゴ DNA の分子量（MW）は、下記の式に基づいて計算されます。

  MW（g/mol） = [（dA × 312.2） +（dC × 288.2） +（dG × 328.2） +（dT × 303.2）] + [（カウンターイオンの MW） ×（オリゴヌクレオチドの塩基長）]
  ※オリゴ RNA の場合は、（dT × 303.2）が（dU × 298.2）になります。

この式に基づいて計算された分子量は、オリゴヌクレオチドの 5' および 3' 末端原子の寄与分を以下のように調整する必要があります。

リン酸化オリゴヌクレオチド［17 + 2 ×（カウンターイオンの MW）］を加える。
非リン酸化オリゴヌクレオチド［61 +（カウンターイオンの MW）］を差し引く。

オリゴヌクレオチドの最も一般的なカウンターイオンの分子量（g/mol）は、Na（ナトリウム:23.0）、K（カリウム：39.1）、TEA（トリエチルアンモニウム：102.2）です。

核酸の純度確認

- 細胞から核酸を抽出する際には、タンパク質が不純物として混入するため、それを除去するための精製が必要になります。吸光度比 260/280 は、この値だけで絶対評価することはできませんが、核酸の純度の指標になります。純度の高い DNA や RNA は、この吸光度比がそれぞれ≧ 1.8、≧ 2.0 になることが期待されます。この値からのずれは不純物の存在を示唆しますが、測定結果については慎重に判断してください。
- 260 nm は核酸の吸収スペクトルの緩やかなピークの頂上付近にあたり、一方、280 nm は勾配の急な位置にあたります（つまり、波長のわずかな変動で吸光度は大きく変化します）。したがって、280 nm における波長のわずかな変動は、260 nm に比べて吸光度比 260/280 に大きく影響します。そのため、異なる装置（同じ機種でも異なる機種でも）では、それぞれの装置自身では一貫した結果が得られますが、互いの波長精度が異なるため、吸光度比は多少違ってきます。
- 核酸の濃度も吸光度比に影響します。溶液の濃度が低すぎる場合は、測定値が装置の測定限界に近くなり、260 nm のピークと 280 nm のスロープがバックグラウンドの吸光度とほとんど差がなくなるので、測定結果は変動しやすくなります。正確な測定を行うために、吸光度が> 0.05 でなければならない 1 つの理由は、この点にあります。
- 230 nm における吸光度の上昇は、吸収極大が 230 nm に近いペプチド、Tris や EDTA などのバッファーの混入を示唆します。RNA サンプルを測定した場合には、吸光度比 260/230 が> 2.0 になり、この値より低い場合は、RNA 精製に一般的に使用される 230 ～ 260 nm に吸収のあるグアニジンチオシアネートの混入が示唆されます。簡易スキャン機能は、RNA サンプルの純度を確認する場合に特に便利です。
- 本装置では、吸光度比 260/280、260/230 が表示できます。また、希釈率や光路長が 10 mm 以外のセルを使用した場合は、set-up で入力しておくことで補正することができます。

バックグラウンドの補正

- 核酸やタンパク質の吸収ピーク（260、280 nm）から完全に離れた波長を利用して、バックグラウンド吸収の補正を行うことがあります。利用する波長は 320 nm で、濁った溶液、バッファーに強い吸収がある場合や微量セルを使用する場合の測定値への影響を補正することができます。本装置では、このバックグラウンドの補正を set-up で選択して行うことができます。
- バックグラウンドの補正を行った場合には、下記の式にしたがって A_{260} および A_{280} から A_{320} の値が差し引かれますので、補正を行わなかった場合と異なった結果になります。

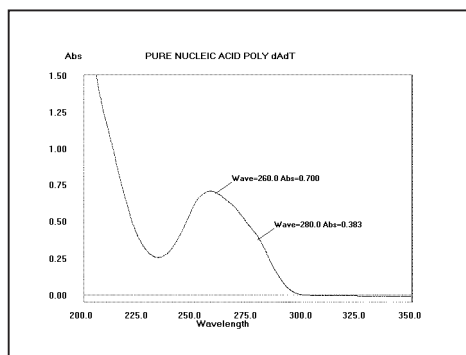
  核酸の濃度 = $(A_{260} - A_{320})$ ×ファクター

  吸光度比 = $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$

  吸光度比 = $(A_{260} - A_{320}) / (A_{230} - A_{320})$

- バックグラウンド補正をこれまで行っていない場合には、この機能は使用しないでください。
- バックグラウンドの補正を行うと、キャピラリーセルやウルトラマイクロボリュームセル（27 ページ『セル』参照）を使用した際の、測定値のばらつきを押さえることができます。

核酸の波長スキャン例

SWIFT ソフトウェアによる出力例で、本装置では 17 ページに示すような出力になります。

備考

・吸収極大は260 nm 付近、吸収極小は230 nm付近にあります。
・260 nm付近は緩やかなピークで、280 nm付近は急な勾配になっています。
・320 nm ではほとんど吸収はありません。

タンパク質の定量

595、546、562 nm での定量

- ブラッドフォード法では、タンパク質に結合したクマシーブリリアントブルー色素の吸収（595 nm）を測定し、既知濃度の標準タンパク質で作成した回帰直線との比較により、タンパク質濃度を定量します。標準タンパク質としては、一般的にウシ血清アルブミン（BSA）が用いられます。ビューレット法では、アルカリ溶液中での銅イオンとペプチド結合との反応生成物の吸収（546 nm）を測定します。BCA 法では、ビューレット法と同様の反応を行い、bicinchoninic acid（BCA）を用いて銅イオンを検出（吸収極大：562 nm）します。BCA による測定は、細胞壁の破壊に使用する界面活性剤などの影響を比較的受けません。
- プロトコールの詳細は、測定キットに添付されている説明書をご参照ください。546 ～ 595 nm におけるランプのエネルギーは比較的低いため、吸光度 2.000 以上は測定できません。
- セルはプラスチック製のディスポーザブルセルの使用をおすすめします。濃度 0 のスタンダードを含む場合には、スタンダード 1 の濃度を 0.0 と入力し、全体のスタンダード数は濃度 0 のものも含めた数に設定します。各スタンダードを 2 点ずつ取りたい場合は、同じ濃度を 2 度ずつ入力してください。例えば、3 つの濃度のスタンダードを 2 点ずつ取る場合には、全スタンダード数は 6 になります。リファレンスは水で取ります。
- 測定したスタンダードの各点に対する回帰直線が計算され、その相関係数とともに出力することができます。相関係数が 0.95 ～ 1.00 の間であれば、良好な直線であると判断できます。

UV（280 nm）での定量

- タンパク質は、チロシン、トリプトファン、フェニルアラニンなどのアミノ酸残基による 280 nm の吸収に基づいて定量することができますが、A_{280} の値はアミノ酸組成によってタンパク質間でかなり異なります。したがって、特定のタンパク質を定量するには、そのタンパク質の吸収特性を決定しておく必要があります。

- タンパク質溶液に核酸が混入している場合には、核酸の 280 nm における強い吸収が、測定値にかなり影響を及ぼします。この影響は、酵母エノラーゼの結晶を用いた Christian と Warberg の式（Biochemisceh Zeitung 310, 384（1941））により 260 nm の吸光度を測定することによって補正することができます。

  タンパク質濃度（mg/ml） = $1.55 \times A_{280} - 0.76 \times A_{260}$
  もしくは、 =（ファクター1 × A_{280}）−（ファクター2 × A_{260}）

- この計算式は、対応するファクターの値がわかっている場合には、他のタンパク質にも適用することができます。本装置では、280 nm の吸収に基づくタンパク質の定量を行うことができ、上記の計算式が初期設定として入力されています。ファクターの値は変更することができ、320 nm におけるバックグラウンドの補正も set-up で選択できます。

- 特定のタンパク質に対して計算式をカスタマイズするには、この 2 つのファクターを導く簡単な計算式を作るために、濃度の明らかなタンパク質溶液で 260、280 nm における吸光度を決定する必要があります。ファクター 2 が負の値の場合は、260 nm における吸収がタンパク質濃度に寄与しないと判断して 0 に設定します。

- 280 nm における吸光度から直接タンパク質濃度を求める場合には、ファクター 2 を 0 に設定し、ファクター1 はそのタンパク質の吸光係数とします。BSA（ウシ血清アルブミン）をスタンダードとして利用する場合、ファクター1 = 1.115 に設定することで、タンパク質濃度 0 〜 0.8 mg/ml の間で直線性のある定量結果が得られます。

  タンパク質濃度（mg/ml）= $1.115 \times A_{280}$

- A_{280} を利用した測定方法は簡便なため、スピンカラムで遠心分離したり、HiTrap カラムで滴下して分離したタンパク質やペプチドの定量に、特に便利です。

菌培養液の測定

・ 細菌に誘導をかけたり集菌する際は、通常600 nmにおける濁度が約0.4になるまで培養を行います。菌体数（密度）と濁度の間には、約0.600 ODまで直線的な関係があります。

・ 菌培養液のような濁ったサンプルの測定では、測定される光の強さは、検出器に入る散乱光の割合であって、分子の吸光によるものではありません。測定結果は、装置の光学特性（セルと装置の出口スリットとの距離、スリットの形状、モノクロメーター）に左右されます。したがって、タイプの異なる装置で測定した場合には、同じ懸濁サンプルであっても異なる結果になります。他の装置と比較する場合には、検量線により測定値を標準化する必要があります。

・ 標準曲線は測定したOD値と期待OD値を比較することで作成することができます。期待OD値は別法（例えば、スライドガラス上に菌培養液を一部取り、顕微鏡下でカウントする方法など）により菌体数を直接カウントし、大よその換算式 $1OD_{600} = 8 \times 10^8$ cells / ml（大腸菌の場合）より求めることができます。

・ GeneQuant *pro* の光学系には、通常の分光光度計と比べてはるかに小型のものが採用されているため、検出器に入る散乱光は期待されるOD値よりも小さくなります。また、測定したOD値と上記のように求めた期待OD値を比較した結果から、大型の光学系を採用している装置とのデータ比較を行う場合の補正のための係数が、2.0であることが分かりました。このファクター値はset-up項目中の初期値になっています。

・ 菌培養液の濁度測定には、光路長10 mmのディスポーザブルセルの使用をおすすめします。サンプルにグリセロールを加えると、懸濁物の沈降による吸光度の変化を防ぐことができます。

セットアップとサンプルの測定

セットアップ

- 装置のセットアップを行うには、**set-up** キーを押します。目的の測定キーを押し、続いて **set-up** キーを押すと、その測定に関する設定項目が表示されます（abs モードでは、セットアップはありません）。
- 各選択項目は、**select** および **enter** キーにより決定します。
- **stop** キーを押すと、どの状態からでも初期画面に戻ります。

ソクテイビ	日付を入力します（本装置に時計機能はありません。測定日ごとに入力してください）。
ツキ	月を選択します。
トシ	年を入力します。
サンプルNo（Sample No.）	サンプル番号を入力します（初期設定は1で、測定ごとに自動的に1ずつ加算されます）。
シュツリョクモード	出力先を、Printer（標準のセントロニクスパラレルケーブルが必要）、Serial（PCへ接続：専用ケーブルが必要）あるいはNone（外部に出力しない）を選択します。
オートプリント	オンにすると、測定後プリンターもしくはPCに自動的に結果（Auto Print）を出力します。この場合**print**キーは使用できなくなります。オンあるいはオフを選択します。
スキャン	オン、オフ、Printのいずれかを選択します。核酸の測定モード（Survey Scan）（DNA、RNAおよびoligo）でのみ有効です。
ヒョウジゲンゴ	English（英語）、Deutsch（ドイツ語）、Francais（フランス語）、Espanol（スペイン語）、Italiano（イタリア語）、ニホンゴ（日本語）から選択します。
ヒヅケプリント	ハイかイイエを選択します。イイエを選択した場合、測定日は印刷されません。
ソウサオン	オンかオフかを選択します。

サンプルの測定

- 測定キー（操作パネル上の **base seq**、**Tm**、**abs**、**DNA**、**RNA**、**oligo**、**protein 595 assay**、**protein 280 meas**、**cell culture** キー）を押してそれぞれの測定モードに入り、続いて **set ref** キーを押してリファレンスをとります。
- その測定モードで使用するすべての波長の測定が行われ、測定値として 0.000 が表示されます。測定前には「ランプジュンビチュウ ...」と表示されます。
- 再び測定キーを押すか、**enter** キーを押すと、サンプルの測定が行われます。
- その測定モードで使用するすべての波長の測定が行われ、実際の測定値と計算結果が表示されます。測定前には「ランプジュンビチュウ ...」と表示されます。
- サンプル番号は常にディスプレイ右上に表示されます。リセットする場合は set up モードで行って下さい。
- 測定後、**print** キーを押すと、ヘッダー、セットアップ項目、吸光度および計算結果がプリントアウトされます。
- オートプリントがオンの場合には、測定結果はプリンターもしくは PC に自動的に出力されます。**print** キーは機能しなくなります。

DNA、RNA、oligo

テクニカル情報の章（8 ページ）に、より詳しく掲載されております。

設定項目

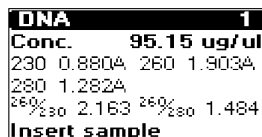
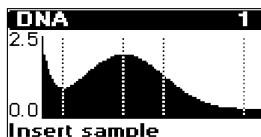
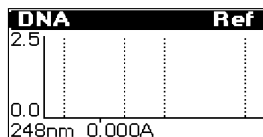
コウロチョウ（Pathlength）	セルの光路長を、10、5、2、1および0.5 mmより選択します。
タンイ （Units）	濃度の単位を、µg/ml、ng/µl、µg/µl、pmol/µlもしくはpmolより選択します。pmol/µlおよびpmolはoligoモードでのみ選択可能で、その際はあらかじめ塩基配列の入力が必要になります。
320 nmシヨウ （Use 320nm）	320 nm（バックグラウンド）を測定する場合はハイ、測定しな（Use 320 nm）い場合はイイエを選択します。
キシャクリツ （Dilution factor）	サンプルの希釈率を1 ～ 10,000倍の範囲で入力します。 リファレンスをセルホルダーに挿入し、**set ref** キーを押します。
サンプルヲイレテクダサイ （Insert sample）	サンプルを装着し、**enter** キーあるいは **DNA/RNA** キーを押してください。 230、260、280および320 nm（選択している場合）における吸光度、260/230、260/280の吸光度比および濃度が表示されます。 サンプル濃度が低すぎて再現性のある結果が得られない場合は、濃度は「------」と表示されます。 **stop** キーを押すと初期画面に戻ります。

oligo のみ

デフォルトファクター （Default Factor）	初期値は33 µg/mlです。必要に応じて変更できます（例えばssDNAの場合は37など）。
ファクターケイサンチ （Calculated Factor）	入力した塩基配列に基づいて計算された変換ファクター（µg/ml）です。
デフォルトファクターシヨウ（Use Default Factor）	デフォルトファクターを濃度計算に使用する場合はハイを選択します。リファレンスを装着し、**set ref** キーを押してください。
サンプルヲイレテクダサイ （Insert sample）	サンプルを装着し、**enter** キーあるいは **oligo** キーを押してください。 吸光度が測定され、260/230、260/280の吸光度比とともに濃度が表示されます。**stop** キーを押すと初期画面に戻ります。

スキャンが選択されている場合

・スキャンの波長範囲は 220 ～ 330 nm で、測定には約 10 秒かかります。

DNA 1
Conc. 95.15 ug/ul
230 0.880A 260 1.903A
280 1.282A
260/230 2.163 260/280 1.484
Insert sample

- グラフ中の縦線は 230、260、280 および 320 nm の位置を示しています。
- スキャンが終了すると測定結果の数値が表示されます。グラフを表示させるには、**select** キーを押します。
- **set-up** キーを押すとグラフの縦軸（吸光度）のスケールを変更することができます（**select** キーで 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、2.5、Auto から選択し、**enter** キーで決定します）。

プリントアウト例

DNA Determination

Date : 28 May 2003

Name : ……………………

Factor : 50.0
Units : μg/ml
Pathlength : 10 mm
Dilution Factor : 1
Use 320 nm : No

No.	230 nm	260 nm	280 nm	320 nm	260/280	260/230	Conc.
1	0.230	0.471	0.255	-----	1.850	2.045	23.5

Oligonucleotide Determination

Date : 28 May 2003

Name : ……………………

Dflt Factor : 33.0
Units : μg/ml
Pathlength : 10 mm
Dilution Factor : 1
Use 320 nm : No

No.	230 nm	260 nm	280 nm	320 nm	260/280	260/230	Conc.
1	0.168	0.325	0.183	-----	1.780	1.934	10.7

Base Sequence

テクニカル情報の章（8 ページ）に、より詳しく掲載されております。

設定項目

エンキタイプ（Base Type）	塩基の種類（DNA もしくは RNA）を選択します。
リンサンカ （Phosphorylated）	リン酸化の有無を選択します。
カウンターイオン （Counter Ion）	カウンターイオンの種類を、Na（ナトリウム）、K（カリウム）、TEA（トリエチルアンモニウム）および Other より選択します。
MW ヲニュウリョクイオン （Other MW）	カウンターイオンで Other を選択した場合に、カウンターの分子量を 1.0 ～ 1,000.0 の範囲で入力します。 **enter** キーを押すと、塩基配列が入力できる状態になります。A、C、G および T/U の各キーを押して、オリゴヌクレオチドやプライマーの塩基配列を 10 ～ 64 塩基の範囲で入力します。**delete** キーを押すと最後に入力した一塩基が削除され、**cancel** キーを押すと（**select** キーでハイ、イイエを選択し）入力した全塩基配列を削除することができます。最後に **select** キーを押すと入力した塩基配列から算出されたパラメーターが表示されます。
リロンテキキュウコウド （Theor. Abs）	入力した塩基配列に基づいて計算された理論的吸光度（AU/µmol）です。
MW ケイサンチ （Calculated MW）	入力された塩基配列分子量が、カウンターイオンおよびリン酸化の有無を加味したうえで算出されます。この値は、pmol/µl 単位での濃度や、変換ファクターの計算に用いられます。
ファクターケイサンチ （Calculated Factor）	入力した塩基配列に基づいて計算された変換ファクター（µg/ml）です。この値は分子量を理論的吸光度で割った値です。

プリントアウト例

Base Sequence

Date : 28 May 2003

Name : ....

AGC, AGC, AGC, AGC, AGC
Base Type : DNA
Phosphorylated : Yes
Counter Ion : Na
Theor. Abs : 149.1
Calculated MW : 5051.0
Calculated Factor : 33.9

Tm

テクニカル情報の章（8 ページ）に、より詳しく掲載されております。
10 mer 以上の塩基長を入力してください。

設定項目

プライマーノウド（Primer Conc.）	プライマーの濃度を1.0 ～ 100.0 pmol/μlの範囲で入力します。
バッファーエンノウド（Buffer Molarity）	ハイブリダイゼーション溶液中の塩濃度を0.1 ～ 10.0の範囲で入力します。
Tmケイサンチ（Calculated Tm）	入力された塩基配列、プライマー濃度、塩濃度に基づいて、nearest neighbour法により算出されたTm値が表示されます。 リファレンスをセルホルダーに挿入し、**set ref**キーを押します。次にサンプルを挿入し、**enter**もしくは**Tm**キーを押します。
サンプルヲイレテクダサイ（Insert sample）	サンプルを装着し、**enter**あるいは**Tm**キーを押してください。 オリゴヌクレオチドの実測濃度に基づいたTm値が表示されます。入力された塩基配列、塩濃度を適用し、nearest neighbour法に基づいて算出されます。 **stop**キーを押すと初期画面に戻ります。

プリントアウト例

Tm

Date : 28 May 2003

Name : ....

AGC, AGC, AGC, AGC, AGC
Phosphorylated : Yes
Counter Ion : Na
Primer Conc. : 1.0
Buffer Molaryty : 0.1
Calculated Tm : 57.0 deg.C

No.	260 nm	Meas. Tm
1	0.123	57.8

Protein 595 Assay

テクニカル情報の章（8 ページ）に、より詳しく掲載されております。

設定項目

Method	測定手法を、Bradford 595、Biuret 546およびBCA 562より選択します。選択したメソッドは次回測定時の初期設定になります。
スタンダードノカズ (No. of Standards)	スタンダードの点数を3 ～ 27の範囲で入力します。
ハチョウ(Wavelength)	測定波長の表示です。
コウロチョウ (Pathlength)	セルの光路長を、10、5、2、1および0.5 mmより選択します。
タンイ(Units)	濃度の単位を、μg/ml、mg/mlおよびμgより選択します。(mg/mlをおすすめします)
アタラシイスタンダード？(New Standards?)	ハイかイイエを選択してください(メソッドがなにも入力されていない場合のみ表示されます)。 イイエを選択した場合、前回入力したスタンダードが使用されます。 ハイを選択した場合は、リファレンスを装着し、**set ref**キーを押してください。
Std#1ヲイレテクダサイ (Insert Std#1)	一番目のスタンダードの濃度を、0.0 ～ 100.0の範囲で入力してください。 スタンダード1を装着し、**enter**キーを押してください。 吸光度が測定され、濃度とともに表示されます。**enter**キーを押してください。
Std#2ヲイレテクダサイ (Insert Std#2)	次のスタンダードの濃度を0.0 ～ 100.0の範囲で入力してください。 スタンダード2を装着し、**enter**キーを押してください。 吸光度が測定され、濃度とともに表示されます。**enter**キーを押してください。 すべてのスタンダードをこの手順で測定してください。 スタンダードカーブの詳細(傾き、相関係数、Y切片)が表示されます。 リファレンスを装着し**set ref**キーを押してください。
サンプルヲイレテクダサイ (Insert Sample)	サンプルを装着し、**enter**キーを押してください。 吸光度が測定され、スタンダードカーブに基づいて計算された濃度とともに表示されます。 すべてのサンプルの測定が終わるまでこの手順を繰り返してください。 **stop**キーを押すと初期画面に戻ります。

プリントアウト例

Protein 595

Date : 28 May 2003

Name : ....

Method : Bradford
No. of Standards : 6

No.	Abs.	Conc.
1	0.693	0.139
2	0.842	0.278
3	0.934	0.417
4	1.026	0.556
5	1.150	0.650
6	1.285	0.834

Slope : 0.746
Corre. Coeff : 0.996
Intercept : 0.593

No	Abs.	Conc.
1	0.995	0.520
2		0.162

Protein 280 Measurement

テクニカル情報の章（8 ページ）に、より詳しく掲載されております。

設定項目

ケイスウ1（Coeff 1）	280 nmに対する係数を0.01 ～ 10.00の範囲で入力します。初期値は1.55です。
ケイスウ2（Coeff 2）	260 nmに対する係数を0.01 ～ 10.00の範囲で入力します。初期値は0.76です。
320 nmシヨウ （Use 320 nm）	320 nm（バックグラウンド）を測定する場合はハイ、測定しない場合はイイエを選択します。 リファレンスを装着し、**set ref**キーを押してください。
サンプルヲイレテクダサイ （Insert sample）	サンプルを装着し、**enter**キーあるいは**protein 280 means**キーを押してください。 吸光度が測定され算出された濃度とともに表示されます。**stop**キーを押すと初期画面に戻ります。

プリントアウト例

Protein 280 nm Measurment

Date	:	28 May 2003		
Name	:	....		
Coeff. 1	:	1.115		
Coeff. 2	:	0.000		
Use 320 nm	:	No		

No.	260 nm	280 nm	320 nm	Conc.
1	0.123	0.275	-----	0.307

菌培養液

テクニカル情報の章（8 ページ）に、より詳しく掲載されております。

設定項目

ファクター （Factor）	補正係数 1.0 ～ 1000.0 を入力することにより、本装置と他の分光光度計での測定結果を直接比較できます。初期設定値は 2.0 で、これが典型的な値です。 リファレンスを入れ、**set ref** キーを押してください。
サンプルヲイレテクダサイ （Insert sample）	サンプルを装着し、**enter** あるいは **cell culture** キーを押してください。 600 nm における OD 値と、補正された測定値とともに表示されます。**stop** キーを押すと初期画面に戻ります。

プリントアウト例

Cell Culture 600 nm

Date : 28 May 2003

Name : ....

Factor : 2.0

No.	OD600	Result
1	0.857	1.714

メッセージ

使用中に下記のメッセージが表示される場合があります。

キュウコウド>2.0A (Absorbance >2.0A)	Protein 595およびCell Cultureモードでは、吸光度2.000 A以上のサンプルは測定できません。
Invalid Curve	スタンダードの順番が正しくないか、吸光度が順に大きくなっていません。もしくは、検量線の傾きが小さすぎます。単位と、スタンダード濃度を変更して(例：100 μg/ml→0.1 mg/ml)傾きが大きくなるようにしてください。)
ヨウエキガウススギマス (Solution too dilute)	再現性のある測定値を得るために、より濃度の高いサンプルを測定するか、より光路長の長いセルを使用してください。
コウリョウガオオスギマス (Too much light)	サンプルコンパートメントの蓋が正しく閉じられていません。
リファレンス1エラー (Ref.1 error)	サンプルコンパートメント内に障害物がないかどうか確認してください。
リファレンス2エラー (Ref.2 error)	サンプルコンパートメント内に障害物がないかどうか確認してください。
ランプガツキマセン (Lamp failure)	ランプが点灯しなかったので、装置の電源を入れ直してください。同じ症状が続く場合はランプの交換が必要です。

下記のメッセージ、その他明らかに問題が生じていることを示すメッセージが表示され、装置を再起動しても改善されない場合には、弊社までご連絡ください。

ランプガカネツシテイマス (Lamp too hot)	冷却ファンが故障しているか、吸気口が遮られています。
フィルターエラー (Filter error)	フィルターホイールが正常に作動していません。
グレイティングエラー (Grating error)	グレイティング装置が正常に作動していません。

結果の出力

プリンタへ出力する場合

- 推奨プリンターは Seiko DPU-414 ですが、適切なケーブルを使用することによって、他のセントロニクスパラレルプリンターを使用することもできます。感熱型プリンターを使用する場合には、印字が途中で折り返されないよう、圧縮プリントモード（80 文字印字）に設定してください（プリンターの説明書参照、Seiko DPU-414 の場合には DIP SW セッティングの項目に記載されています）。セットアップで、プリンターを On に設定してください。
- 出力はアルファベットのみで、装置にプリンターを接続して電源を投入し、**print** キーを押すと測定結果を出力できます。装置の表示言語設定がドイツ語、フランス語、イタリア語、スペイン語になっている場合、ウムラウト、アクセント記号は印字されません。
- 簡易スキャンの結果は Seiko DPU-414 を使用した場合にのみプリントアウト可能です。set-up でシュツリョクモードが Print に設定されている場合、プリンターに出力されます。設定がオンの場合は装置のディスプレイ上には表示されますが、プリンターには出力されません。

PC へ出力する場合（Windows 対応）

注意

市販のシリアルケーブルは使用できません。

1）スプレッドシートインターフェースソフトウェアを使用する場合

シリアルインターフェースアダプター（80-2109-02）が必要です。このアダプターにはスプレッドシートインターフェースソフトウェアがフロッピーディスクで同梱されており、Excel 形式で出力するためのマクロが含まれています。インストールおよび使用方法は、アダプター添付のマニュアルを参照ください。

2）Hyperterminal を使用する場合

シリアルインターフェースアダプター（80-2109-02）が必要です。セットアップ項目のシュツリョクモードが Serial になっていることを確認してください。

① スタートボタンから「プログラム」→「アクセサリ」→「ハイパーターミナル」を選択し、Hyperterm.exe をダブルクリックして接続の設定のウインドウを開きます。

② 名前（例えば GeneQunat *pro*）を入力し OK をクリックします。

③ 接続方法を Com 1 へダイレクト（もしくは接続しているポート）に選択し、OK をクリックします。

④ COM1 のプロパティのウインドウでポートを設定（ビット / 秒：19,200、データビット：8、パリティ：なし、ストップビット：1、フロー制御：なし）し、OK すると接続が開始されます。

⑤ ファイルから「プロパティ」→「設定」を選択し、ASCII 設定をクリックします。

⑥ ASCII の送信項目中の「行末に改行文字を付ける」と「ローカルエコー」をチェックし、OK を 2 回続けてクリックします。

⑦ ファイルから「名前を付けて保存」を選択し、適当な場所にセッションファイルを保存します。次回以降は、この保存されたファイルを開くと接続が開始され、設定は不要になります。

⑧ 転送から「テキストのキャプチャ」を選択し、ファイル名を入力して開始をクリックします。

⑨ 装置で測定を行うと、データが自動的にファイルに転送されます。

⑩ 測定が終了したら、転送から「テキストのキャプチャ」→「停止」を選択します。

⑪ 通信から「切断」を選択し、接続を終了します。

⑫ 保存されたデータは Excel より開くことができます。

セル

適切なセルの選択

本装置では、光路長 10 mm のセルを使用した場合、0.005 ～ 3.000 の範囲で吸光度を測定することができます。一般的に、分光光度計は吸光度 0.100 ～ 1.000 の範囲で最も精度よく測定することができます。セルはサンプル濃度、希釈率、測定に使用可能なサンプル容量に基づいて選択してください。測定値が 0.05 以下になると、装置の検出限界に近いために測定の再現性が悪くなりますので、そのような状況はできるだけ回避してください。下記の表を参照して適切なセルを選択してください。GeneQuant *pro* の光路位置は標準的な 15 mm 高になっていますので、光路位置が 8.5 mm 高のセルを使用する場合はアダプターが必要です（弊社では、アダプターの取扱いはございません）。

希釈後のサンプル濃度（ng/μl）＊1	サンプル容量（μl）	セルタイプ	光路長（mm）	製品コード
5 ～ 125	> 2,000	スタンダード	10	80-2002-58
	> 750	セミマイクロ	10	80-2002-77
	> 70	マイクロボリューム	10	80-2103-69
	> 70	70 μl UV ディスポーザブルセル	10	80-3000-81
10 ～ 250	> 5	ウルトラマイクロボリューム＊2	5	80-2103-68
100 ～ 2,500＊3	> 3	キャピラリー スペアキャピラリー（100本入り）	0.5	80-2104-66 80-2104-67

＊1 dsDNA と仮定、光路長 10 mm のセルで Abs260 = 1.0 のとき、50 μg/ml（ = ng/μl）になります。
＊2 マイクロサンプルビューアー（80-2109-87）が付属しています。
＊3 ミニプレップした DNA や PCR 産物であれば、一般的に 50 ～ 200 ng/μl の濃度範囲になりますので、通常、希釈の必要はありません。

- 容量 7 μl のウルトラマイクロボリュームセルの測定限界は、dsDNA で 2 μg/ml（吸光度 0.020）です。これは、7 μl のサンプルを測定に使用した場合、14 ng の dsDNA に相当しますが、このレベルのサンプル量では結果の再現性が悪くなります。
- キャピラリーセルの測定限界は、dsDNA で 20 μg/ml（吸光度 0.020）です。これは、3 μl のサンプルを測定に使用した場合、60 ng の dsDNA に相当しますが、このレベルのサンプル量では結果の再現性が悪くなります。
- 70 μl UV ディスポーザブルセルは RNA および DNA サンプルの定量に最適です。サンプル量は 70 μl です。

他の分光光度計との測定値の比較

- 測定値を他の分光光度計で測定したものと比較する際には、同じサンプルを同じセルで同じように測定し、同じ波長で比較する必要があります。
- GeneQuant *pro* のバンド幅は 5 nm で、このパラメーターは吸光度の値に影響します。したがって、比較する際には同じバンド幅の装置でなければなりません。

サンプルの充填

使用前、各サンプルの測定ごとに常にセルをきれいに洗浄し乾燥させてください。

光路長 10 mm のスタンダードセル

- 溶液のメニスカスがセルの底より最低 20 mm の位置にくるようサンプルを充填します。

マイクロボリュームセル（80-2103-69）

- 溶液のメニスカスが光線を遮らないようにサンプルを充填します。最低 70 µl 以上が推奨容量です。

ウルトラマイクロボリュームセル（80-2103-68）

- クリスタルチップ（エッペンドルフ社製など）を装着したピペッターで、溶液のメニスカスが光線を遮らないようにサンプルを充填します。最低 7 ～ 10 µl 以上が推奨容量です。
- セルに開いている円錐状の穴の一方にチップの先端をしっかり挿入し、空気が抜けるように反対側の穴を上向きにしてセルを傾け、サンプルをゆっくり送り出します。
- セルをマイクロサンプルビューアーに差し込んで光にかざすと、セルの穴が 3 倍に拡大して見えるので、気泡やその他の障害物がないかどうか確認することができます。
- セルの表面は傷をつけないようにきれいに拭ってください。

キャピラリーセル（80-2104-66）とスペアキャピラリー（80-2104-67）

- キャピラリーの先端をサンプル溶液に浸すと、測定できるだけのサンプルが自然に吸い上げられます。
- 付属のクリスタシールでキャピラリーを塞ぎ、吸い上げた液が漏れ出さないようにします。

70 µl UV ディスポーザブルセル（80-3001-81）

- 溶液のメニスカスが光線を遮らないようにサンプルを充填します。最低 70 µl 以上が推奨容量です。

測定

- セルの光路長を 10 mm（ウルトラマイクロボリュームセル（80-2103-68）の場合は 5 mm）に設定します。セルの向きは常に同じになるように測定します。

キャピラリーセルの場合

- セルの光路長は 0.5 mm に設定します。
- キャピラリーセルホルダーをサンプルコンパートメントにセットします。
- キャピラリーを挿入します。

セルの洗浄

- 使用後のセルは薄いアルカリ（0.1 M NaOH など）と薄い酸（0.1 M HCl など）で洗浄し、蒸留水で数回すすいでください。この方法で落とすのが困難な汚れが付着した場合には、ガラス器具用の洗剤（Decon など）を用い、その使用方法に従って洗浄してください。
- キャピラリーセルを洗浄する場合は、セルの両面にあるネジを付属の工具で緩めて分解し、折れたキャピラリーを除いて洗浄してください。

ウルトラマイクロボリュームセル、キャピラリーセルを使用した際の測定再現性

- 核酸を測定した場合は、4 波長全ての測定値を見て、サンプルに問題がないか、正しい測定範囲で測定を行っているかどうかを確認してください。
- 多数のサンプルを連続して測定する場合には、リファレンスを定期的（10 回の測定につき 1 回が理想的）に取り直してください。
- 320 nm におけるバックグラウンドの補正を行ってください。
- A_{260} の値が 0.100 以上になるようサンプルを調製してください。
- セルを入念に洗浄してください。

アクセサリー

製品名	コード番号
重水素ランプ	80-2109-86
プリンタースタンド	80-2109-96
プリンター	72-0496-01
プリンターケーブル	80-2071-87
プリンター用紙	71-1600-04
シリアルインターフェースアダプター（シリアルインターフェースソフトウェア同梱）	80-2109-02
キャリブレーションチェックフィルターセット	80-2109-88
ダストカバー	80-2109-13

メンテナンス

アフターサポート

弊社は、ユーザーが GLP/GMP に関する規約のガイドラインを履行するためのサポートを提供しています。

・キャリブレーション、国際標準トレーサブルなフィルターによる評価

・有資格エンジニア、キャリブレーション済みテスト機器

・ISO 9001 標準に適合

故障時の補償とは別途、以下の項目を選択することができます。

・予防的メンテナンス

・証明書

装置のパフォーマンスチェック（cal check ユーティリティーキーを使用）

- Good Laboratory Practice（GLP）を履行するには、装置のパフォーマンスをチェックすることが重要になります。GLP では、得られた実験結果からその実験に使用した装置を辿ることができ、また、装置が正常に作動しているかどうかを検証しなければなりません。
- キャリブレーションチェックフィルターセット（80-2109-88）を使用すると、装置の 230、260、280、320、595 および 600 nm における測光精度、260、280 nm における波長精度および 260 nm における迷光を確認することができます。
- 弊社技術サービス部では、フィルターセット（NIST トレーサブル第 2 標準）を使用して装置のパフォーマンスをチェックし、記録保存のための検査証明書を発行することができます（有料）。お客様ご自身で装置が仕様通りに動作しているかどうかを定期的にテストしたい場合には、キャリブレーションチェックフィルターセット（80-2109-88）をご利用ください。使用方法はフィルターセットに添付されている説明書をご参照ください。

装置のクリーニングと一般的なメンテナンス

装置の外部のクリーニング

- 装置の電源を切り、電源ケーブルを抜きます。
- 装置の外部表面は湿らせた柔らかい布で拭いてください。
- 落ちにくい汚れには薄い液体洗剤を使用してください。

サンプルコンパートメント部のクリーニング

- 装置の電源を切り、電源ケーブルを抜きます。
- サンプルコンパートメント部は化学耐性のある材料で作られています。ただし、非常に濃度の高いサンプルがこぼれた場合には、表面を損傷する可能性があるので、速やかに拭き取ってください。
- サンプルコンパートメント内部には小さな排水口があり、こぼれた液はここを通じて本体底部より実験台上に排出されます。
- サンプルコンパートメント部を拭く場合は、乾いた柔らかい布を使用してください
- 電源コードを接続し、装置の電源を入れます。

ヒューズの交換

- 装置の電源を切り、電源ケーブルを抜きます。ヒューズホルダーは、装置の後部パネルの電源ソケットとオン / オフのスイッチとの間にあり、電源コードを外さなければ開かないようになっています。電源ソケットの金属部には絶対に触れないようにしてください。
- ノッチを引いてヒューズホルダーを開きます。
- ヒューズ（1.6AT、5 mm × 20 mm、FST）2 個をヒューズホルダーに入れ、元通りに閉じます。
- 電源ケーブルを接続し、装置の電源を入れます。
- ヒューズは通常、装置の寿命まで切れることはありません。頻繁に切れる場合は弊社までご連絡ください。

重水素ランプの交換

ランプ交換の目安は、装置ご購入後約 36 ヶ月です。

重水素ランプ	80-2109-86

ランプ部はユーザーがご自身で交換できるようにデザインされています。ランプは製造時に光軸調整済みですので、ユーザーによる調整は不要です。使用中は、ランプは大変熱くなります。交換は、ランプを十分冷ましてから行ってください。ランプの表面を素手で触れないでください（ティッシュペーパーを使用してください）。触れてしまった場合は、イソプロパノールで拭いてください。
ランプの交換方法は以下の通りです。

1） 装置の電源を切り、電源ケーブルを抜きます。

2） 装置底部の 7 個のネジを外して、カバーを外します。

3） 装置の上部カバーを慎重に持ち上げ、内部のリボンケーブルを傷つけないよう、また回路（特にヒートシンク）に触れないよう気を付けて、装置に右側に斜めに立てかけます。

4） 図中 A の留め金を押して、ボードからコネクターを外します。

図中 B の 2 個のネジを外します。

重水素ランプと枠組みを取り付け部から外します。

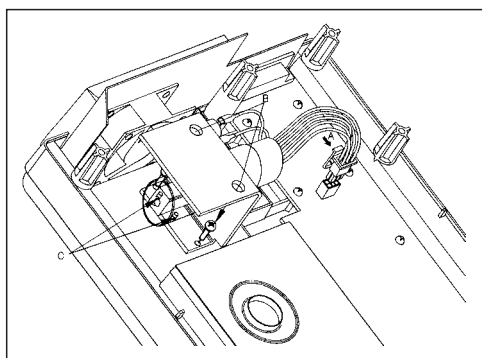
5） 新しい重水素ランプを、図中 C の突起がランプの枠の穴にはまるよう取り付けます。

図中 B の 2 個のネジを慎重に固く締め付けます。

図中 A のコネクターを、留め金がきっちりかみ合うように取り付けます。

6） リボンケーブルを挟まないように装置の上部カバーを被せます。

7） 装置底部の 7 個のネジを取り付けます。

8） 電源コードを差し込み、装置の電源を入れます。

仕様

波長レンジ	Fixed at 230, 260, 280, 320, 546、562, 595 and 600 nm Survey scan : 220 ～ 330 nm
モノクロメーター	Czerny - Turner configuration with 1,200 lines/mm holographic grating
波長キャリブレーション	Automatic upon switch on
バンド幅	5 nm
波長精度	± 1 nm
波長再現性	± 0.5 nm
光源	Long life borosilicate glass pulsed duterium lamp
ディテクター	Silicon photodiode
測光レンジ	0 to ± 3.000 A for 230, 260, 280 and 320 nm 0 to ± 2.000 A for 546、562, 595 and 600 nm
直線性	± 1.0% or ± 0.005 A to 3.000 A, whichever is the greater
測光再現性	0.5% of absorbance value
迷光	< 0.1% T at 220 nm using Acetone
デジタル出力	Centronics parallel as standard 9 pin serial via interface adapter lead
サイズ	320 × 400 × 160 mm
重量	4 kg
電源	90 ～ 265 V AC, 50/60 Hz, 80 VA
Safety standard	EN 61010-1
EMC emissions	EN 50081-1 Generic emissions part 1
EMC immunity	EN 50082-1 Generic immunity part 1
Susceptibility standard	IEC 801
Quality System	Designed and manufactured in accordance with an ISO 9001 approved quality system

上記仕様上の測定値は、一定の室温下で測定した典型的な値です。製品開発・改善のため予告なしに製品外見・仕様の一部を変更することがあります。

保証

製品が明示した仕様に適合していることを保証します。製品の保証期間は、取り扱い説明書に基づき正しく使用した場合に限り、装置ご購入後 12 ヶ月です。本製品を取り扱い説明書以外の誤った使用により生じた損失や故障については、弊社は一切の責任を負いかねます。

本製品は、Biochrom Ltd., 22 Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0FJ, UK にて開発、製造しています。